

Departement für Nutztiere, Klinik für Reproduktionsmedizin  
Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich

Direktor: Prof. Dr. med. vet. Heinrich Bollwein

Arbeit unter wissenschaftlicher Betreuung von  
Professor Dr. med. vet. Heinrich Bollwein

**Zusammenhänge zwischen Ultraschallbefunden zum Zeitpunkt der künstlichen  
Besamung, dem Zeitpunkt der Ovulation und dem Erstbesamungserfolg  
bei Kühen der Rasse Deutsches Fleckvieh**

Inaugural- Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der  
Vetsuisse Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

**Desireé Franziska Lieven**

Tierärztin  
aus Kalkar, Deutschland

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. med. vet. Heinrich Bollwein, Referent  
PD Dr. med. vet. Maike Heppelmann, Korreferentin

**2020**



# Inhaltsverzeichnis

<b>Inhaltsverzeichnis .....</b>	<b>3</b>
<b>Zusammenfassung.....</b>	<b>4</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>5</b>
<b>1. Einleitung .....</b>	<b>6</b>
<b>2. Material und Methoden.....</b>	<b>8</b>
2.1 Versuchstiere .....	8
2.2 Ablauf des Versuchs .....	8
2.3 Kriterien des Besamungstechnikers für Besamungstauglichkeit .....	9
2.4 Untersuchung von Uterus und der Ovarien um den Besamungszeitpunkt ...	9
2.4.1 Transrektale Palpation .....	9
2.4.2 Transrektale Ultrasonographie .....	9
2.5 Bestimmung der Progesteronkonzentration .....	11
<b>3. Statistische Analyse.....</b>	<b>13</b>
<b>4. Ergebnisse .....</b>	<b>14</b>
4.1 Reproduktionsdaten, Ovulationsrate und Erstbesamungserfolg .....	14
4.2 Effekte der Ovarpalpation auf die Ovulationsrate und den Erstbesamungserfolg .....	14
4.3 Zuverlässigkeit der palpatorisch erhobenen Ovarbefunde .....	16
4.4 Ovulationsrate und Erstbesamungserfolg in Abhängigkeit von den ultrasonographischen Ovar- und Uterusbefunden .....	17
4.5 Progesteronkonzentration in der Milch .....	21
<b>5. Diskussion .....</b>	<b>22</b>
<b>Referenzen .....</b>	<b>29</b>
<b>Danksagung</b>	
<b>Curriculum Vitae</b>	

## Zusammenfassung

Vetsuisse Fakultät Zürich (2020)

Desirée Franziska Lieven

Klinik für Reproduktionsmedizin

Ziele dieser Studie waren, zu prüfen, ob eine Palpation der Ovarien (PO) und die Durchmesser des präovulatorischen Follikels (FD) und eines eventuell vorhandenen Corpus luteums (CLD) sowie die Endometriumdicke (ED) den Erstbesamungserfolg (EBE) beeinflussen. Dazu wurden 486 Milchkühe zum Zeitpunkt der ersten künstlichen Besamung (KB) *post partum* sowie 4-6 Wochen danach sonographisch untersucht. Die PO hatte keinen Effekt ( $p > 0.05$ ) auf den EBE, der bei allen zur KB vorgestellten Kühen (AK) 56.0% betrug. Der EBE von Kühen mit  $12.0 \text{ mm} \leq \text{FD} < 20.0 \text{ mm}$ , einem  $\text{CLD} < 15.0 \text{ mm}$  und einer  $\text{ED} > 8.0 \text{ mm}$  war höher als der EBE von AK (69.3%;  $p \leq 0.05$ ). Da jedoch die Prävalenz dieser Kriterienkombination nur bei 53.7% lag, wäre bei einer KB ausschliesslich solcher Kühe der EBE bezogen auf AK niedriger gewesen als der bei der unselektierten KB aller Kühe ( $p \leq 0.05$ ; 36.9% vs. 56.0%). Bei Kühen mit  $12.0 \text{ mm} \leq \text{FD} < 20.0 \text{ mm}$  und einem  $\text{CLD} < 15.0 \text{ mm}$  lag der EBE bei 65.8% und die Prävalenz bei 77.4%. Damit wäre bei Anwendung dieser Kriterien der EBE bezogen auf AK nicht unterschiedlich im Vergleich zur unselektierten KB aller Kühe gewesen ( $p > 0.05$ ; 50.9% vs. 56.0%). Zusammenfassend hatte eine Palpation der Ovarien von brünstigen Kühen keine nachteiligen Effekte auf die Fertilität. Bei einer gezielten Selektion von Kühen in Abhängigkeit von den Grössen der Follikel und Corpora lutea könnte auf viele Besamungen verzichtet werden ohne negative Auswirkungen auf den Besamungserfolg der gesamten Kuhherde.

## Abstract

Relationships between ultrasonographic findings at the time of artificial insemination, time of ovulation and first service conception rate in Simmental cows

The aim of this study was to investigate, whether the palpation of the ovaries (PO), the diameter of the preovulatory follicle (FD) and any corpus luteum (CLD) as well as the endometrial thickness (ED) affect the first service conception rate (FSCR). For this purpose, 486 dairy cows were examined at the time of the first artificial insemination (AI) after parturition and 4-6 weeks later. The PO had no effect ( $p > 0.05$ ) on the FSCR, which was 56.0% in all examined cows (AC). In cows with  $12.0 \text{ mm} \leq \text{FD} < 20.0 \text{ mm}$ , a  $\text{CLD} < 15.0 \text{ mm}$  and an  $\text{ED} > 8.0 \text{ mm}$  the FSCR was higher (69.3%;  $p \leq 0.05$ ) than the FSCR of AC. However, since only 53.7 % of AC met these three criteria, the FSCR related to AC would have been lower compared to the FSCR of AC ( $p \leq 0.05$ ; 36.9% vs. 56.0%) after AI of only these cows. The cows with an  $12.0 \text{ mm} \leq \text{FD} < 20.0 \text{ mm}$  and a  $\text{CLD} < 15.0 \text{ mm}$  showed a FSCR of 65.8% and a prevalence of 77.4%. Thereby, the FSCR of the cows meeting the last mentioned criteria in relation to AC would not have been significantly lower compared to FSCR after AI of AC ( $p > 0.05$ ; 50.9% vs. 56.0%). In summary, the palpation of the ovaries during estrous had no adverse effect on fertility of cows. The selection of cows for AI according to the sizes of the preovulatory follicles and the corpora lutea could reduce the number of AIs without adverse effects on fertility of the total cow herd.

Keywords: palpation, ovulation, cattle, ultrasonographie, fertility

## 1. Einleitung

Der Besamungserfolg bei Milchkühen hängt sehr stark von der Person ab, welche diese durchführt [1]. Eine wichtige Rolle spielt zum Beispiel die Wahl des richtigen Zeitpunkts der Insemination in Relation zur Ovulation. Bei einer zu frühen Besamung vor der Ovulation altern die Spermien und bei einer zu späten Insemination nach der Ovulation die Oozyten. Gealterte Gameten führen aufgrund der damit verbundenen Schädigungen zu reduzierten Befruchtungs- und Trächtigkeitsraten [2].

Viele Besamungsorganisationen empfehlen ihren Technikern keine Palpation der Ovarien durchzuführen, da durch die Manipulation eine vorzeitige Ruptur des präovulatorischen Follikels bzw. eine Störung des Auffangmechanismus der Oozyten durch den Eileiter ausgelöst werden könne und dies negative Auswirkungen auf die Konzeptionsrate der Kühe habe [3]. Es gibt aber Studien, die zeigen, dass durch eine palpatorische [4] bzw. eine ultrasonographische [5] Untersuchung der Ovarien der Zyklusstand und damit die Besamungstauglichkeit der Kühe objektiver beurteilt werden können und dies zu einem erhöhten Besamungserfolg führt [4]. Durch eine Palpation der Funktionsgebilde auf den Ovarien können trächtige bzw. diöstrische Kühe sowie Tiere mit pathologischen Ovarbefunden von einer Besamung ausgeschlossen werden [6]. In einer Arbeit von Sturman et al. (2000) zeigten Progesteronbestimmungen im Blutserum, dass zum Zeitpunkt der Besamung 19% der Kühe ein funktionelles CL aufwiesen, d.h. sich im Diöstrus befanden bzw. bereits trächtig waren [7]. Die palpatorisch ermittelte Konsistenz des Follikels hat nach Lopez-Gatius [8] einen grösseren Einfluss auf den Besamungserfolg als die Faktoren Vorhandensein von vaginalem Ausfluss, Saison, Brunstinduktion und Bulle [8]. Als besamungstauglich gelten Kühe mit einem FD zwischen 12.0 und 25.0 mm, keinem CLD über 10.0 mm Durchmesser, einem kontraktile und ödematisierten Uterus und reichlich klarem Vaginalsekret [4].

Die Befunde, die bei einer Palpation der Ovarien erhoben werden, sind jedoch im Vergleich zu einer ultrasonographischen Untersuchung sehr unzuverlässig. In einer Studie von Bicalho et al. (2008) stellte sich heraus, dass bei einer transrektalen Untersuchung durch verschiedene Untersucher die Sensitivität für die Diagnose eines funktionellen CL 33.3% bis 59.9% an Tag 37 post partum (pp) und 48.3% bis 68.4% an Tag 51 pp betrug. Die Spezifität lag dagegen in einem Bereich von 76.7% bis 93.2% an Tag 37 pp und 73.3% bis 86.7% an Tag 51 pp. Wurden aber ultrasonographische Untersuchungen durchgeführt und Mindestgrößen für die Diagnose eines

funktionellen CL definiert, dann ergaben sich bei einem Mindestwert von 23 mm an Tag 21 nach der KB und 22 mm an Tag 24 nach AI Sensitivitäten und Spezifitäten von 87.2% und 81.0% bzw. von 89.5% und 89.4% [9]. In einer älteren Studie von Ribadu et al. (1994), in der 34 Kühe in der Mitte des Zyklus untersucht wurden, lagen bei einer transrektalen Palpation die Sensitivität, Spezifität und der positive prädikative Wert bei 85.0%, 95.7% und 89.5% und bei der ultrasonographischen Untersuchung die entsprechenden Werte bei 95.0%, 100.0% und 100.0%, wobei als Goldstandard die Progesteronkonzentration im Plasma herangezogen wurde [10]. Kelton et al. (1991) haben an 389 Kühen im Proöstrus transrektal von neun verschiedenen Veterinären das Vorkommen eines funktionellen CL untersuchen lassen. Es ergab sich dabei eine mittlere Sensitivität von 82.6% und eine mittlere Spezifität von 52.6%. Als Goldstandard wurde hierbei die Progesteronkonzentration in der Milch herangezogen [11].

Die ultrasonographische Beurteilung der Endometriumdicke (ED) scheint eine zusätzliche Möglichkeit zu bieten, um durch entsprechende Selektion der zur Besamung vorgestellten Kühe die Konzeptionsrate zu erhöhen. Der Besamungserfolg war bei Kühen mit einer ED > 8 mm höher als bei Tieren mit geringerer ED. Des Weiteren war es möglich durch eine Untersuchung der ED 48 Stunden nach einer PGF<sub>2α</sub>-Injektion im Rahmen eines Ovsynch-Programmes den Ovulationstermin und den Besamungserfolg zu prognostizieren [12].

Da bisher weder Studien zu den Effekten einer Ovarpalpation noch zu den Zusammenhängen zwischen ultrasonographischen Befunden am Ovar und Uterus und der Fertilität bei zur Besamung vorgestellten Kühen bekannt sind, sollten diese in der vorliegenden Untersuchung überprüft werden.

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Versuchstiere**

Die Untersuchungen wurden von Mai bis Oktober 2014 an Kühen, die durch drei Besamungstechniker des Besamungsvereins Neustadt an der Aisch erstmals nach der Geburt besamt wurden, durchgeführt. Die Kühe standen in insgesamt 137 landwirtschaftlichen Betrieben mit 7 bis 128 Tieren ( $35.6 \pm 24.0$ ). Alle 511 Tiere, die in die Studie aufgenommen wurden, gehörten der Rasse Deutsches Fleckvieh an. Von den Kühen befanden sich 337 (66.1%) in einem Boxenlaufstall. Die anderen 173 (33.9%) standen in Anbindehaltung. Im Durchschnitt hatten die Kühe der untersuchten Betriebe eine Milchleistung von 7900 kg.

### **2.2 Ablauf des Versuchs**

Wurde ein Tier zur Erstbesamung vom Landwirt vorgestellt (= Tag 0), erfolgte durch den Besamungstechniker eine Untersuchung auf Besamungstauglichkeit und bei positivem Befund eine Besamung mit Tiefgefriersperma eines von 8 Bullen der Rasse Deutsches Fleckvieh. Die besamten Kühe erhielten entsprechend dem Zeitpunkt ihrer Besamung eine laufende Versuchsnummer. Anschliessend wurden Uterus und Ovarien der Kühe von Desiree Lieven (DL) nachuntersucht, wobei Kühe mit ungerader Versuchsnummer ausschliesslich ultrasonographisch (US) und Kühe mit gerader Nummer palpatorisch und ultrasonographisch (POUS) untersucht wurden. An Tag 1 (24  $\pm$  3 Stunden nach der Besamung) wurde jede Kuh einer weiteren ultrasonographischen Untersuchung unterzogen, um festzustellen, ob eine Ovulation stattgefunden hatte. Bei 40 Tieren ohne Ovulation, die mittels Losverfahren ausgewählt wurden, erfolgte an Tag 10 eine Milchprobenentnahme zur Progesteronbestimmung (P<sub>4</sub>M). Zwischen den Tagen 28 bis 42 wurde eine ultrasonographische Trächtigkeitsuntersuchung durchgeführt. Wurden Tiere zwischen der Erstbesamung und dem Zeitpunkt der Trächtigkeitsdiagnose erneut als brünstig vorgestellt, erfolgte eine manuelle Voruntersuchung zur Überprüfung der Besamungstauglichkeit durch den Besamungstechniker und bei positivem Befund eine erneute Besamung. Diese Tiere wurden als nicht trächtig gewertet und in der Studie nicht weiter verfolgt.



### **2.3 Kriterien des Besamungstechnikers für Besamungstauglichkeit**

Als besamungstauglich wurden vom Besamungstechniker nur Kühe definiert, bei denen die Uterushörner nicht mehr als drei Finger dick waren, der Uterus eine mittlere bis gute Kontraktilität aufwies und keine deutliche Asymmetrie zwischen beiden Hörnern vorlag.

### **2.4 Untersuchung von Uterus und der Ovarien um den Besamungszeitpunkt**

Es wurde bei allen Tieren eine ultrasonographische Untersuchung des Uterus und der Ovarien durchgeführt. Zudem erfolgte bei einem Teil der Tiere eine zusätzliche palpatorische Untersuchung.

#### **2.4.1 Transrektale Palpation**

An den Ovarien wurde von DL eine transrektale Palpation durchgeführt und dabei die Art der Funktionsgebilde (Follikel, Corpora lutea) bestimmt und dokumentiert.

#### **2.4.2 Transrektale Ultrasonographie**

Die transrektale ultrasonographische Untersuchung des Uterus und der Ovarien erfolgte mit dem Gerät „Easi-Scan“ (Fa. BCF Technology Ltd., Livingston, Schottland), das mit einer Linearsonde mit einem Frequenzbereich von 7.5 MHz ausgestattet war. Die gespeicherten Bilder wurden auf einen PC übertragen und mit der Software „OsiriX“ (Fa. Pixmeo SARL, Bernex, Schweiz) ausgewertet. Es wurde der genaue Durchmesser von CLs mit einem geschätzten mittleren Durchmesser  $\geq 10.0$  mm bestimmt [4]. Als präovulatorische Follikel wurden Follikel mit einem mittleren Durchmesser von  $\geq 12.0$  bis  $< 25.0$  mm definiert [4] und als zystische Ovarfollikel (COF) wurden Follikel  $\geq 25.0$  mm bezeichnet [13][14]. Von den Funktionsgebilden wurden jeweils 2 bis 7 Bilder pro Untersuchung aufgenommen und diejenigen Bilder ausgewertet, auf denen diese die grössten Dimensionen zeigten. Zur Berechnung des mittleren Durchmessers der Funktionsgebilde wurde das arithmetische Mittel aus grössten Längs- und Querdurchmessern bestimmt. Die FD und CLD wurden retrospektiv in Abhängigkeit von ihrer Grösse in Kategorien unterteilt.

Die FD wurde in fünf verschiedene Kategorien eingestuft:

- $FD_0 < 12.0 \text{ mm}$
- $12.0 \leq FD_I < 15.0 \text{ mm}$
- $15.0 \leq FD_{II} < 20.0 \text{ mm}$
- $20.0 \leq FD_{III} < 25.0 \text{ mm}$
- $FD_{IV} \geq 25.0 \text{ mm}$

Bei den CLD erfolgte die Einteilung in vier Kategorien:

- $CLD_0 < 10.0 \text{ mm}$
- $10.0 \leq CLD_I < 15.0 \text{ mm}$
- $15.0 \leq CLD_{II} < 20.0 \text{ mm}$
- $CLD_{III} \geq 20.0 \text{ mm}$

Die Endometriumdicke wurde an Querschnittsbildern von Uterushörnern, die ca. 2 cm kranial der Uterusbifurkation aufgenommen wurden, bestimmt. Von jedem Uterushorn wurden bei der ultrasonographischen Untersuchung ein bis zwei Bilder angefertigt, zwei Werte pro Bild für den Durchmesser bestimmt, wie in Abbildung 1 dargestellt, und aus diesen dann der Mittelwert ermittelt [12].

Auch bezüglich der ED wurden die Kühe in vier Kategorien eingeteilt:

- $ED_8 < 8.0 \text{ mm}$
- $8.0 \leq ED_9 < 9.0 \text{ mm}$
- $9.0 \leq ED_{10} < 10.0 \text{ mm}$
- $ED_{11} \geq 10.0 \text{ mm}$

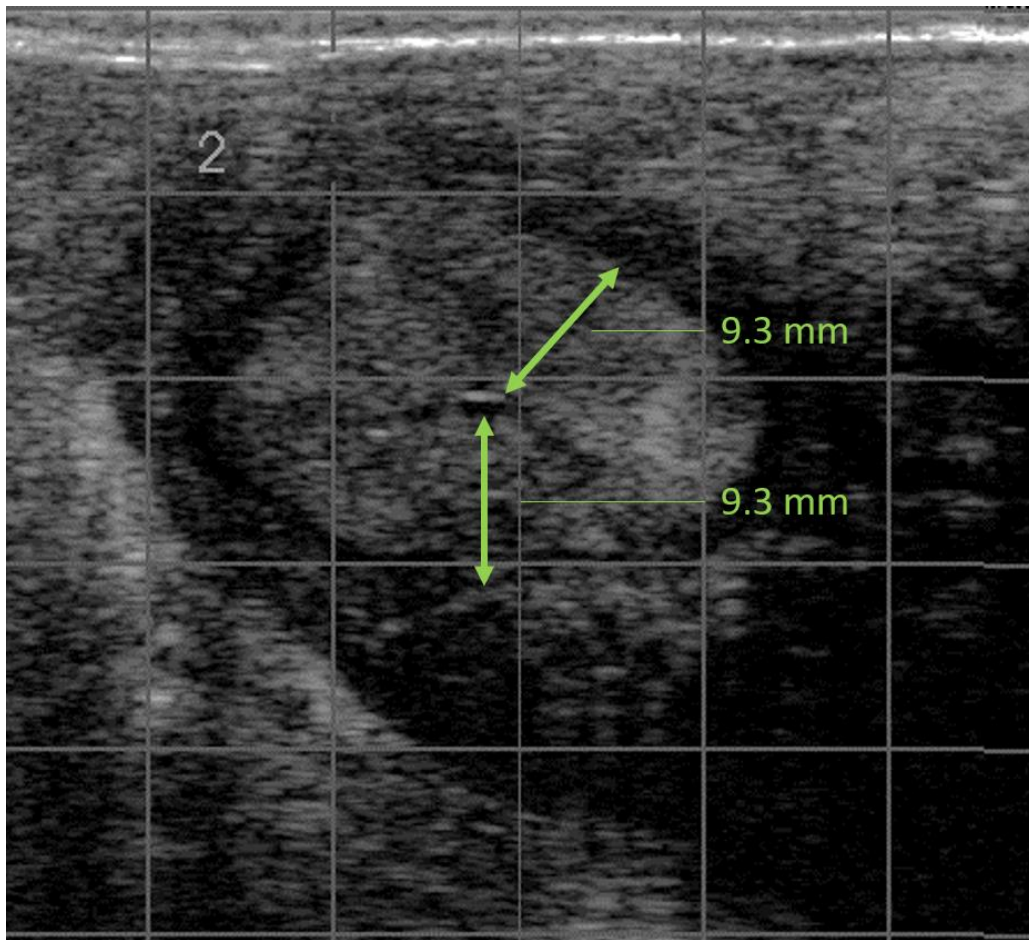


Abbildung 1: Bestimmung der Endometriumsdicke bei einer 3-jährigen Kuh 2 cm kranial der Uterusbifurkation im linken Uterushorn am Tag der Besamung.

An Tag 1 wurden die Ovarien erneut ultrasonographisch untersucht, um festzustellen, ob eine Ovulation des präovulatorischen Follikels stattgefunden hatte. Zwischen den Tagen 28 und 42 wurden die Kühe, die zwischenzeitlich nicht erneut besamt worden waren, ultrasonographisch auf Trächtigkeit untersucht. Eine positive Diagnose wurde beim Nachweis eines Embryos mit Herzaktion gestellt.

## 2.5 Bestimmung der Progesteronkonzentration

Bei 40 zufällig ausgewählten Tieren, bei denen an Tag 1 keine Ovulation stattgefunden hatte, gewann der Landwirt an den Tagen 10 bis 12 nach der Besamung aus dem Vorgemelk 10 ml Milch in ein Probenröhrchen ohne Zusätze, um den Milchprogesteronwert ( $P_4M$ ) zu erfassen. Von diesen Proben wurden 7 nicht zeitgerecht (zu späte oder zu frühe Entnahme der Milchprobe) entnommen, so dass 33 für die Hormonanalyse herangezogen werden konnten. Die Milchproben wurden bis zum Abschluss der klinischen Untersuchungen tiefgefroren ( $-20\text{ °C}$ ). Zur Bestimmung der  $P_4M$  wurden alle Milchproben gemeinsam im Wasserbad aufgetaut und durch Zen-

trifugation (3300 x g, 15 min, 4 °C) das Fett entfernt (Kollmann et al. 2008) und anschliessend an der entrahmten Milch ein Enzymimmunoassay durchgeführt (Meyer et al. 1986).

### 3. Statistische Analyse

Die deskriptive Analyse mit Berechnung der Mittelwerte und Standardabweichungen wurde herangezogen, um die Laktationsnummern, die Rastzeiten, die Grössen der Follikel und Corpora lutea, die Dicke des Endometriums und die Progesteronspiegel bei den verschiedenen Tiergruppen zu beschreiben. Um Abhängigkeiten zwischen den Laktationsnummern, Rastzeiten, den Grössen der Follikel und Corpora lutea, der Dicke des Endometriums, der Prävalenz und Grösse zystischer Ovarfollikel, der Ovulationsrate sowie dem Erstbesamungserfolg und dem Eintritt der Ovulation einen Tag nach der Besamung bzw. der Palpation der Ovarien zu überprüfen, wurde bei normalverteilten Daten eine einfaktorielle Varianzanalyse und bei nicht normalverteilten Daten der Wilcoxon-Test und der Kruskal-Wallis-Test verwendet. Die Überprüfung der Normalverteilung erfolgte visuell, sowie mittels des Shapiro-Wilk- und Kolmogorov-Smirnov-Tests. Vergleiche der Ovulationsraten und der Erstbesamungserfolge zwischen verschiedenen Tiergruppen erfolgten mit dem Chi-Quadrat-Homogenitätstest. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte unter Verwendung des Statistikprogramms StatView 5.0 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA). Irrtumswahrscheinlichkeiten von  $p \leq 0.05$  wurde als signifikant definiert.

## **4. Ergebnisse**

### **4.1 Reproduktionsdaten, Ovulationsrate und Erstbesamungserfolg**

Von den 511 besamten Kühen wurden 486 für die Auswertungen herangezogen, da drei Tiere schon vor der Trächtigkeitsuntersuchung geschlachtet wurden und 22 Kühe nach der ersten Besamung innerhalb der folgenden drei Tage erneut besamt wurden.

Die 486 Kühe befanden sich in der 1. bis 8. Laktation ( $2.34 \pm 1.48$ ) und hatten eine Rastzeit von 30 bis 408 ( $78.3 \pm 36.6$ ) Tagen. Der EBE betrug 56.0% und war unabhängig ( $p > 0.05$ ) von der Parität und der Rastzeit.

### **4.2 Effekte der Ovarpalpation auf die Ovulationsrate und den Erstbesamungserfolg**

Die Beurteilung der Effekte einer PO auf die OVR und den EBE erfolgte nur an den 412 Kühen, bei denen zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung ein präovulatorischer Follikel nachgewiesen werden konnte (Tabelle 1). Die daraus gebildeten Tiergruppen ohne und mit Palpation der Ovarien unterschieden sich nicht ( $p > 0.05$ ) in den Reproduktionsparametern mit Ausnahme der OVR, die bei den POUS-Kühen um 8.3% höher ( $p = 0.05$ ) war als bei den US-Kühen. Der EBE war unabhängig ( $p > 0.05$ ) von der Art der Befunderhebung.

Tabelle 1: Reproduktionsdaten und Ovarbefunde bei allen Kühen mit einem präovulatorischen Follikel ohne und mit Ovulation und bei Kühen in Abhängigkeit von der Durchführung einer Palpation und dem Eintritt einer Ovulation innerhalb von einem Tag nach der Besamung.

ALLE				Gruppe US			Gruppe POUS		
Parameter	total (n = 412)	Ovulation (n = 313)	keine Ovulation (n = 99)	total (n=198)	Ovulation (n=159)	keine Ovulation (n = 39)	total (n=214)	Ovulation (n=154)	keine Ovulation (n= 60)
LN	2.34 ± 1.48	2.31 ± 1.5	2.42 ± 1.53	2.34 ± 1.55	2.28 ± 1.48	2.62 ± 1.82	2.34 ± 1.42	2.35 ± 1.548	2.30 ± 1.28
RZ (Tage)	78.3 ± 37.1	77.48 ± 31.8	81.11 ± 51.0	77.4 ± 30.1	78.5 ± 29.6	72.5 ± 31.9	79.2 ± 42.7	76.4 ± 34.0	86.4 ± 59.2
FG (mm)	15.5 ± 2.3	1.56 ± 0.22	1.51 ± 0.24	15.5 ± 2.1	15.6 ± 2.1	14.9 ± 2.3	15.5 ± 2.4	15.6 ± 2.4	15.3 ± 2.4
ED (mm)	8.71 ± 1.26	8.83 ± 1.2	8.36 ± 1.5	8.78 ± 1.21	8.87 ± 1.12	8.41 ± 1.49	8.65 ± 1.30	8.78 ± 1.19	8.31 ± 1.53
Prävalenz COF (%)	3.9	1.9	10.3	4.5	2.5	12.8	3.3	1.3	8.3
COFD (mm)	31.7 ± 5.4	31.9 ± 4.5	32.3 ± 5.4	30.8 ± 5.4	32.7 ± 5.1	29.3 ± 5.6	32.8 ± 5.6	30.2 ± 5.9	33.9 ± 5.8
Prävalenz CL (%)	8.7	3.5	21.8	9.6	6.3	23.1	7.9	1.9	23.3
OVR	76.0	100	0	72.0 <sup>a</sup>	100.0	0	80.3 <sup>b</sup>	100.0	0
EBE (%)	60.9	73.5	21.6	60.6	70.4 <sup>a</sup>	20.5 <sup>b</sup>	61.2 <sup>a</sup>	76.6 <sup>a</sup>	21.7 <sup>b</sup>

Kühe, deren Ovarien ausschliesslich sonographisch untersucht wurden (Gruppe US), Kühe, deren Ovarien palpatorisch und sonographisch untersucht wurden (Gruppe POUS), Laktationsnummer (=LN), Rastzeit (=RZ), Follikeldurchmesser (=FD), Endometriumsdicke (=ED), cystische Ovarfollikel (=COF); Durchmesser der COF (=COFD); Corpora lutea (= CL), Ovulationsrate (=OVR). Erstbesamungserfolg (=EBE)

Zahlen mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Zeile unterscheiden sich (p < 0.05).

### 4.3 Zuverlässigkeit der palpatorisch erhobenen Ovarbefunde

Bei 242 Kühen wurde zusätzlich zur ultrasonographischen noch eine palpatorische Untersuchung der Ovarien durchgeführt. Während mittels US bei 85.1% (n = 206) der Kühe ein Follikel mit einem FD  $\geq 12.0$  mm festgestellt wurde, war dies bei der palpatorischen US nur in 74.3% der Untersuchungen (n = 180) der Fall ( $p \leq 0.05$ ). Von den 36 Kühen, bei denen ultrasonographisch kein präovulatorischer Follikel feststellbar war, wurde in 2 Fällen (5.6%) ein solcher Follikel palpiert. Legt man die US als Goldstandard fest und vergleicht diese mit den Ergebnissen der Palpation, ergibt sich eine Sensitivität von 94.4%, eine Spezifität von 86.4%, ein positiver prädikativer Wert von 98.9% und ein negativer prädikativer Wert von 54.8% für die Untersuchung von ovariellen Follikeln mittels Palpation. Mit Hilfe der Palpation und US wurden gleich häufig COFs festgestellt (je 5.8%; n = 14). Jedoch gab es in je 2 Fällen keine Übereinstimmung, d.h. es wurde palpatorisch ein COF diagnostiziert, aber ultrasonographisch nicht und umgekehrt. Ein CL wurde ultrasonographisch (3.7% der Kühe; n = 9) nicht häufiger ( $p > 0.05$ ) als palpatorisch (2.9% der Kühe; n = 7) festgestellt. Von den 233 Kühen, bei denen ultrasonographisch kein CL sichtbar war, wurde palpatorisch in einem Fall ein CL diagnostiziert.



#### **4.4 Ovulationsrate und Erstbesamungserfolg in Abhängigkeit von den ultrasonographischen Ovar- und Uterusbefunden**

Zum Zeitpunkt der Besamung wurde bei 84.7% ( $n = 412$ ) der Tiere ein Follikel mit  $FD_I$ ,  $FD_{II}$  oder  $FD_{III}$  ( $FD: 15.5 \pm 2.3$  mm) festgestellt (Tabelle 2). Die Prävalenz war bei Follikeln mit  $FD_{II}$  am höchsten und bei Follikeln mit  $FD_{IV}$  am niedrigsten. Von den untersuchten Kühen hatten 13.0% einen Follikel der Kategorie  $FD_0$ , d.h. bei diesen Tieren war zum Zeitpunkt der Insemination kein präovulatorischer Follikel vorhanden. Der EBE bei dieser Gruppe von Kühen lag bei 34.9%. Von diesen Tieren, die zum Zeitpunkt der Besamung keinen präovulatorischen Follikel auf den Ovarien aufwiesen, hatten drei zum Untersuchungszeitpunkt ein CL mit  $CLD \geq 15$  mm. Kühe ohne präovulatorischen Follikel und ohne ein CL mit  $CLD \geq 15$  mm hatten einen EBE von 36.7%.

Tiere mit Follikeln der Kategorien  $FD_I$ ,  $FD_{II}$  und  $FD_{III}$  unterschieden sich in der OVR nicht voneinander ( $p > 0.05$ ). Bei Kühen mit Follikeln der Kategorien  $FD_I$  und  $FD_{II}$  war der EBE jedoch höher ( $p \leq 0.05$ ) als bei Tieren mit Follikeln der Kategorie  $FD_{III}$ . Der EBE war bei den Kühen, die innerhalb eines Tages nach der Besamung ovuliert hatten, deutlich höher ( $p \leq 0.05$ ) als bei den Kühen, bei denen dies nicht der Fall war. Von den Kühen mit  $FD_{III}$ , die nicht innerhalb eines Tages nach der Insemination ovuliert hatten, wurde keine trächtig. Nur eine der Kühe mit  $FD_{IV}$  hatte einen Tag nach der Besamung ovuliert. Keine der Kühe mit  $FD_{IV}$  wurde trächtig.

Ein CL mit einem  $CLD \geq 10.0$  mm hatten 8.0% ( $n = 39$ ) der Kühe zum Zeitpunkt der Besamung und ein CL mit einem  $CLD \geq 15.0$  mm ( $CLD_{II}$ ,  $CLD_{III}$ ) 4.4% ( $n = 21$ ) der Tiere. Kühe mit einem  $CLD_I$  zeigten im Vergleich zu Tieren mit  $CLD_0$  keine Unterschiede ( $p > 0.05$ ) in der OVR und im EBE. Bei Kühen mit  $CLD_{II}$  war die OVR deutlich niedriger ( $p \leq 0.05$ ) als bei Kühen mit  $CLD_I$  und  $CLD_0$ . Keine der 9 Kühe mit  $CLD_{III}$  hatte einen Tag nach der Besamung ovuliert. Von den 21 Kühen mit einem  $CLD \geq 20$  mm wurde kein einziges Tier nach der Erstbesamung trächtig.

Fast jede dritte Kuh wies ein Endometrium mit einer  $ED < 8.0$  mm auf. Bei diesen Kühen war die OVR niedriger ( $p \leq 0.05$ ) als bei den Kühen mit einem dickeren Endometrium. Der EBE war bei Tieren mit  $ED_8$  niedriger ( $p \leq 0.05$ ) als bei Kühen mit  $ED_9$  und  $ED_{10}$ . Der EBE von Kühen mit  $ED_{11}$  lag zwischen denjenigen der Kühe mit  $ED_8$  und  $ED_9$  bzw.

ED<sub>10</sub> und unterschied sich nicht signifikant von dem EBE der anderen drei ED-Tiergruppen.

Von den 486 Kühen hatten 77.4% Follikel der Kategorien FD<sub>I</sub> und FD<sub>II</sub> und ein CL der Kategorien CLD<sub>0</sub> oder CLD<sub>I</sub> (Tabelle 3). Der EBE dieser Tiere war höher ( $p \leq 0.05$ ) als bei allen besamten Kühen. Der Anteil der trächtigen Kühe an allen zur Besamung vorgestellten Kühen hätte sich aber nicht unterschieden ( $p > 0.05$ ), wenn nur die Kühe mit Follikeln und CLs der Kategorien FD<sub>I</sub> oder FD<sub>II</sub> bzw. CLD<sub>0</sub> oder CLD<sub>I</sub> statt aller Kühe besamt worden wären.

Follikel mit FDs der Kategorien I oder II und CLDs mit CLDs der Kategorien 0 oder I und einem Endometrium mit ED der Kategorien 9, 10 oder 11 wurden bei 53.7% der Kühe festgestellt. Bei diesen Tieren war der EBE nicht höher ( $p > 0.05$ ) als bei den Kühen mit Follikel der Kategorien I oder II und CLDs der Kategorie 0 oder I. Der Anteil der trächtigen Kühe an allen zur Besamung vorgestellten Kühen wäre aber bei der Besamung nur solcher Tiere mit 36.9% deutlich niedriger gewesen, da 49.3% der Kühe nicht alle diese Kriterien nicht erfüllt haben.

Tabelle 2: Prävalenz, Ovulationsrate (= OVR) und Erstbesamungserfolg (EBE) bei ovulierenden (OV), nicht ovulierenden (NOV) und allen Kühen in Abhängigkeit von der Grösse der Follikel (FD), der Corpora Lutea (CLD) sowie der Endometriumdicke (ED)

Kategorie	Prävalenz	OVR	EBE		
			OV (n = 372)	NOV (n = 114)	ALLE (n = 486)
<i>FD<sub>0</sub></i>	13.0 (63) <sup>a</sup>	-	-	-	34.9 (22) <sup>a</sup>
<i>FD<sub>I</sub></i>	37.0 (180) <sup>b</sup>	71.7 (129) <sup>a</sup>	76.7 (99) <sup>a,*</sup>	23.5 (12) <sup>a,#</sup>	61.7 (111) <sup>b</sup>
<i>FD<sub>II</sub></i>	43.2 (210) <sup>c</sup>	80.0 (168) <sup>a</sup>	75.0 (126) <sup>a,*</sup>	21.4 (9) <sup>a,#</sup>	64.3 (135) <sup>b</sup>
<i>FD<sub>III</sub></i>	4.5 (22) <sup>d</sup>	72.7 (16) <sup>a</sup>	31.3 (5) <sup>b</sup>	0 (0)	22.7 (5) <sup>a</sup>
<i>FD<sub>IV</sub></i>	2.3 (11) <sup>d</sup>	9.1 (1) <sup>b</sup>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>CLD<sub>0</sub></i>	92.0 (447) <sup>a</sup>	79.8 (356) <sup>a</sup>	67.4 (242) <sup>a,*</sup>	20.5 (18) <sup>a,#</sup>	58.2 (260) <sup>a</sup>
<i>CLD<sub>I</sub></i>	3.7 (18) <sup>b</sup>	61.1 (11) <sup>a</sup>	90.9 (11) <sup>a,*</sup>	42.9 (7) <sup>a,#</sup>	72.2 (18) <sup>a</sup>
<i>CLD<sub>II</sub></i>	2.5 (12) <sup>b</sup>	22.2 (3) <sup>b</sup>	0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)
<i>CLD<sub>III</sub></i>	1.9 (9) <sup>c</sup>	0 (0)	0 (0)	0.0 (0)	0.0 (0)
<i>ED<sub>8</sub></i>	32.9 (160) <sup>a</sup>	67.2 (86) <sup>a</sup>	60.7 (68) *	16.7 (8) <sup>#</sup>	47.5 (76) <sup>a</sup>
<i>ED<sub>9</sub></i>	26.3 (128) <sup>b</sup>	80.4 (103) <sup>b</sup>	72.8 (75) *	16.0 (4) <sup>#</sup>	61.7 (79) <sup>b</sup>
<i>ED<sub>10</sub></i>	26.1 (127) <sup>b</sup>	77.6 (99) <sup>b</sup>	73.0 (73) *	22.2 (6) <sup>#</sup>	62.2 (79) <sup>b</sup>
<i>ED<sub>11</sub></i>	14.6 (71) <sup>c</sup>	83.9 (60) <sup>b</sup>	63.0 (36) *	21.4 (3) <sup>#</sup>	54.9 (39) <sup>a,b</sup>

FD<sub>0</sub> < 12.0 mm; 12.0 ≤ FD<sub>I</sub> < 15.0 mm; 15.0 ≤ FD<sub>II</sub> < 20.0 mm; 20.0 ≤ FD<sub>III</sub> < 25.0 mm; FD<sub>IV</sub> ≥ 25.0 mm; CLD<sub>0</sub> < 10.0 mm; 10.0 ≤ CLD<sub>I</sub> < 15.0 mm; 15.0 ≤ CLD<sub>II</sub> < 20.0 mm; CLD<sub>III</sub> ≥ 20.0 mm; ED<sub>8</sub> ≤ 8.0 mm; 8.0 mm < ED<sub>9</sub> ≤ 9.0 mm, 9.0 mm < ED<sub>10</sub> ≤ 10.0 mm, ED<sub>11</sub> > 10.0 mm

Die Ovulationsrate (OVR) bezieht sich nur auf die Kühe, bei denen ein präovulatorischer Follikel (≥ 12 mm) zum Zeitpunkt der Besamung festgestellt werden konnte (n = 412). Zahlen mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Spalte und innerhalb derselben Parameter (FD, CLD, ED) und Zahlen mit unterschiedlichen Asterisks innerhalb einer Zeile unterscheiden sich (p < 0.05).

Tabelle 3: Prävalenz, Erstbesamungserfolg (EBE) und Graviditätsrate (GRAVR) aller zur Besamung vorgestellten Tiere bei Verwendung unterschiedlicher sonographisch erhobener Kriterien. In Klammern sind jeweils die Tierzahlen angegeben.

Parameter	Alle Kühe	F I/II + CL 0/I	F I/II + CL 0/I + ED 9-11
Prävalenz	100% <sup>a</sup> (486)	77.4% <sup>b</sup> (376/486)	53.7% <sup>c</sup> (261/486)
EBE	56.0% <sup>a</sup> (272/486)	65.8% <sup>b</sup> (247/376)	69.3% <sup>b</sup> (181/261)
GRAVR	56.0% <sup>a</sup> (272/486)	50.9% <sup>a</sup> (247/486)	36.9% <sup>b</sup> (181/486)

FD<sub>I/II</sub> + CLD<sub>0/I</sub>: Kühe mit einem Follikeldurchmesser von mind. 12.0 mm und weniger als 20.0 mm und ohne ein CL mit einem Durchmesser von mind. 15.0 mm.

FD<sub>I/II</sub> + CL<sub>0/I</sub> + ED<sub>9-11</sub>: Kühe mit einem Follikeldurchmesser von mind. 12.0 mm und weniger als 20.0 mm 20.0 mm und ohne einem CL mit einem Durchmesser von mind. 15.0 mm und einer Endometriumdicke  $\geq 8.0$  mm; GRAVR: Anteil trächtiger Kühe an allen zur Besamung vorgestellten Kühen.

Zahlen mit unterschiedlichen Buchstaben innerhalb einer Zeile unterscheiden sich ( $p < 0.05$ ).

#### **4.5 Progesteronkonzentration in der Milch**

Wie bereits oben erwähnt, wurden von 33 Kühen, die am Tag nach der KB nicht ovuliert hatten, 10 bis 12 Tage später Milchproben gewonnen. In 26.4% (8) der Fälle lagen die P<sub>4</sub>M dieser Proben unter 0.5 ng/ml [15].

## 5. Diskussion

In der vorliegenden Studie waren zwischen der Rastzeit und der OVR bzw. dem EBE keine Zusammenhänge festzustellen. Dieses Ergebnis steht im Widerspruch zu den Resultaten der Studie von Lambertz et al. (2014), in der Kühe mit einer Rastzeit < 70 Tage eine deutlich niedrigere Non-Return-Rate 90 Tage nach der Besamung (NRR90) als Tiere mit einer längeren Rastzeit aufwiesen [16]. Auch Cutullic et al. [17] haben mit zunehmendem Zeitintervall von der Kalbung bis zur ersten Besamung eine höhere Reproduktionsleistung festgestellt, die sich in einem früheren Eintritt des Zyklusgeschehens post partum, deutlicheren Brunstsymptomen und erhöhter Fruchtbarkeit darstellte. Jedoch wurden im Vergleich zur vorliegenden Studie bei den Studien von Lambertz et al. (2014) sowie Cutullic et al. (2012) vor allem Holstein Friesian Kühe untersucht, die eine deutlich höhere Milchleistung als die Kühe der eigenen Studie aufwiesen. Bei diesen Tieren kommt es zu einer über einen längeren Zeitraum anhaltenden ausgeprägten negativen Energiebilanz und daraus resultierend zu einer schlechteren Reproduktionsleistung als bei Kühen der Rasse Deutsches Fleckvieh. In mehreren Studien wurde die negative Auswirkung der steigenden Milchleistung auf die Fortpflanzungsfähigkeit belegt [18][19][20]. Urdl et al. (2015) zeigten, dass Kühe der Rasse Deutsches Fleckvieh peripartal geringere  $\beta$ -Hydroxybutyrat Konzentrationen und postpartal eine weniger ausgeprägte negative Energiebilanz aufweisen als Kühe der Rassen Holstein Friesian und Brown Swiss [21].

Jedoch sind diese Ergebnisse eventuell nicht direkt vergleichbar, da für eine verzögerte Ovulation laut Bostedt et al. (1977) viele verschiedene Gründe anzuführen sind. Zum einen kann durch eine fehlerhafte Brunstbeobachtung eine zu frühe Vorstellung zur Insemination stattgefunden haben, zum anderen kann nach Abklingen der äusseren Brunstsymptome eventuell von einer grösseren Variabilität des Ovulationszeitpunktes beim Rind auszugehen zu sein oder es ist zu einer wahrhaftigen verzögerten Ovulation gekommen [22]. Zudem scheint auch die oben erwähnte negative Energiebilanz einen Einfluss auf die LH Sekretion und die verzögerte Ovulation zu haben [23].

Wir haben auch keinen Zusammenhang zwischen der Parität und der OVR bzw. dem EBE beobachtet. In der Literatur gibt es über den Effekt der Parität auf die Fertilität von Milchkühen sehr unterschiedliche Ergebnisse. Während Stevenson und Call (1988) sowie Rocha et al. (2001) bei pluriparen Kühen eine höhere Fertilität als bei primiparen Tieren feststellten [24], wurden in anderen Studien gegenteilige Ergebnisse erzielt

[25][26][27]. Wieder andere fanden, ebenso wie wir, keine Effekte der Parität auf die Reproduktionsleistung [28]. Sarmento (2004) fand im Gegensatz zu unserer Studie einen Zusammenhang zwischen Laktationsnummer und der Häufigkeit einer verzögerten Ovulation nach einer Besamung. In der letztgenannten Studie zeigten Tiere der 3. Laktation signifikant seltener eine verzögerte Ovulation als Kühe in der 1. Laktation oder ab der 5. Laktation [29]. Die Beurteilung einer verzögerten Ovulation anhand wiederholter Untersuchungen bei zur Besamung vorgestellten Kühen ist jedoch kritisch zu betrachten. So kann nach Bostedt et al. (1977) auch nur scheinbar eine verzögerte Ovulation vorhanden gewesen sein, da Kühe teilweise aufgrund einer fehlerhaften Brunstbeobachtung zu früh zur Insemination vorgestellt werden [22].

Von den Kühen, die am nächsten Tag noch nicht ovuliert hatten, lag bei etwa einem Viertel der Tiere 10 Tage nach der Besamung der Progesteronwert in der Magermilch unter 0.5 ng/ml. Da die Ovulation bei etwa einem Viertel der Kühe einen Tag nach der Ovulation nicht eingetreten war, ergibt sich ein Anteil von 5 bis 10% ausgebliebener Ovulationen. Die präovulatorischen Follikel können atresiert sein oder sich zu zystischen Ovarfollikeln entwickelt haben. Ähnliche Resultate fand Sarmento (2004), die bei 9% der Kühe 48 h nach KB keine Ovulation feststellte. Teilweise kam es noch zu einer Ovulation am 3. oder 4. Tag nach KB oder die ausgebliebene Ovulation resultierte in einer Follikelatresie oder zystischen Entwicklung [29]. Andere Studien fanden im Vergleich eine niedrigere Prävalenz [10].

In unserer Studie zeigten sich zwischen den Kühen, bei denen vor der Besamung eine Palpation der Ovarien durchgeführt wurde und den Tieren, die nur ultrasonographisch untersucht wurden, keine Unterschiede bezüglich des EBE. Jedoch wiesen die Tiere, die zusätzlich einer Palpation der Ovarien unterzogen wurden, etwa 8% höhere Ovulationsraten auf als Tiere, bei denen das Ovar nur ultrasonographisch beurteilt wurde. Wishart stellte bereits 1972 fest, dass es zu einer Verkürzung der Zeitraums zwischen Ovulation und dem Ende der Brunst durch eine wiederholte transrektale Palpation kommen kann [30]. Er diskutiert die durch die Palpation hervorgerufene erhöhte Durchblutung als entscheidenden Faktor, die auch in unserem Versuch eine Rolle gespielt haben könnte. Der Zeitraum zwischen dem Ende des Östrus und der Ovulation wird auch durch den Paarungsakt verkürzt [31], da es dabei zu einer erhöhten Ausschüttung von Oxytocin kommt, die dazu führt, dass vermehrt Prostaglandin freigesetzt wird [32]. Auch

die Palpation der Cervix induziert eine erhöhte Oxytocinausschüttung bei brünstigen Kühen [33]. Somit könnte die in diesem Versuch vorgefundene erhöhte Ovulationsrate durch die wiederholte Manipulation des Uterus und der Ovarien und die daraus resultierende erhöhte Ausschüttung an Oxytocin zustande gekommen sein.

Der EBE unterschied sich nicht zwischen den POUS- und PO-Gruppen. Dieses Ergebnis bekräftigt die Ansicht von López-Gatius, dass die Auslösung einer sofortigen Ovulation durch die Palpation der Ovarien unwahrscheinlich ist und höchstens bei ungeübten Untersuchern vorkommt [8]. Wäre es zu einer sofortigen Ruptur des Follikels durch die Palpation gekommen, hätte dies vermutlich einen negativen Effekt auf den EBE gehabt, obwohl auch die Vermutung geäußert wurde, dass trotz Ruptur des Follikels durch die Palpation der Ovarien die Oozyte vom Ovidukt aufgefangen werden kann [34]. Roelofs et al. (2004) haben ferner gezeigt, dass eine wiederholte transrektale Palpation um den Zeitpunkt der Besamung keinen Einfluss auf das Verhalten und die Hormonprofile (LH, Oestradiol und Progesteron) des Tieres hat [5]. Es ist aber auch zu beachten, dass in unserer Studie trotz höherer OVR innerhalb eines Tages nach der transrektalen Palpation der EBE sich nicht im Vergleich zu den Kühen ohne Ovarpalpation unterschied. Daher ist nicht auszuschliessen, dass die Palpation zum Zeitpunkt der Besamung sowohl negative als auch positive Effekte auf die Konzeption haben könnte, die sich gegenseitig kompensieren. Denn es besteht die Möglichkeit, dass durch die Palpation eine Störung des Auffangmechanismus der Oozyten durch den Eileiter ausgelöst wird [3].

Bei der ultrasonographischen Untersuchung wurden bei einem höheren Anteil von Kühen präovulatorische Follikel als bei der transrektalen Palpation festgestellt. Eine ähnliche Beobachtung haben bereits Lüttgenau et al. (2015) gemacht. In ihrer Studie wurden 10.9% mehr Kühe, die zusätzlich zur Palpation auch ultrasonographisch untersucht wurden, als besamungsuntauglich eingestuft im Vergleich zu Kühen, bei denen nur eine Palpation erfolgte. Ein wichtiger Grund für diesen Unterschied war, dass präovulatorische Follikel palpatorisch nicht diagnostiziert wurden [35]. Eine Arbeit von Pieterse et al. (1990), die ebenfalls Kühe unmittelbar vor der Schlachtung untersuchten, untermauert diese Resultate. Follikel mit einem FD  $\geq 10$  mm wurden mittels Ultraschall zu 95% erkannt, wohingegen bei der palpatorischen Untersuchung nur 71% dieser Follikel richtig diagnostiziert wurden [36].

Von den zur Besamung vorgestellten Kühen wiesen 13.0% ( $n = 63$ ) keinen präovulatorischen Follikel auf. Drei Tiere davon hatten ein Corpus luteum mit einem Durchmesser



$\geq 15$  mm, d.h. sie befanden sich im Diöstrus oder am Anfang des Proöstrus [4]. Bei den anderen 95.2% der Kühe war ultrasonographisch weder ein CL noch einen Follikel diagnostizierbar. Dass alle die letztgenannten Kühe zum Zeitpunkt der Besamung azyklisch waren, scheint unwahrscheinlich, da in einer anderen Studie eine Prävalenz von 7% für Azyklen bei Milchkühen gefunden wurde [37]. Zudem hatten die Landwirte die Kühe mit Brunstsymptomen zur Besamung vorgestellt und 34.9% dieser Kühe ohne präovulatorischen Follikel zum Zeitpunkt der Besamung wurden auch trächtig. Lopez-Gatius (2011) hat dagegen zum Zeitpunkt der Besamung nur bei 3.5% der Tiere keinen präovulatorischen Follikel vorgefunden [8]. Die grosse Differenz gegenüber unserer Studie könnte dadurch bedingt sein, dass in der zuletzt erwähnten Arbeit nur eine Palpation der Ovarien stattgefunden hat und somit vorhandene Funktionsgebilde fälschlicherweise nicht erkannt wurden. Die bereits oben beschriebene relativ niedrige Trächtigkeitsrate bei Kühen ohne präovulatorischen Follikel zum Zeitpunkt der Besamung ist nicht überraschend. Roelofs et al. (2006) stellten bei Kühen, die 36 bis 24 Stunden bzw. 24 bis 12 Stunden vor der Ovulation besamt wurden, 85% bzw. 82% befruchtete Eizellen fest, wohingegen bei einer Besamung nach Ovulation nur 56% der Eizellen fertilisiert waren. Bei einer Besamung in einem Zeitraum von 12 bis 24 h vor der Ovulation hatte man 68% Embryonen guter Qualität gewonnen, während bei einer Besamung bis 12 Stunden nach der Ovulation nur 6% der Kühe Embryonen guter Qualität hatten [2]. Begründen lässt sich die deutlich reduzierte Embryonalentwicklung mit der Alterung der Oozyten [34], die vor allem mit einer Schädigung der zellulären Organellen einhergehen [38]. Da in unserer Arbeit, die Trächtigkeitsrate bei den Kühen mit bereits stattgefundener Ovulation sehr hoch war, ist davon auszugehen, dass diese bei den trächtig gewordenen Kühen unmittelbar vor der Besamung erfolgt ist.

Gemäss Roelofs (2010) und Lopez- Gatius (1991) sind Kühe besamungstauglich, wenn sich auf den Ovarien ein Follikel zwischen 12.0 bis 25.0 mm und ein CL mit einem Durchmesser von maximal 10.0 mm befindet [39][4]. In der vorliegenden Studie stellten wir fest, dass Kühe mit einem FD von 12.0 bis 25.0 mm zwar keine Unterschiede in der OVR aufwiesen, jedoch der EBE bei Tieren mit einem FD zwischen 20.0 und 25.0 im Vergleich zu denjenigen Kühen mit einem FD von 12.0 bis 20.0 mm deutlich erniedrigt war. Lüttgenau et al. (2016) haben ebenfalls bei Follikeln mit einem FD von 17.5 bis 20.0 mm zum Zeitpunkt der Besamung einen niedrigeren EBE beobachtet als bei Kühen mit einem FD von 12.0 bis 17.5 mm. Jedoch gab es keinen Unterschied im

EBE zwischen Kühen mit FDs von 17.5 bis 20.0 mm und von 20.0 bis 22.5 mm [35].

Auch Vasconcelos et al. (1999) beobachteten bei einem FD > 18.2 mm um 10% geringere Trächtigkeitsraten im Vergleich zu kleineren Follikeln [40]. Nach Perry et al. (2007) sind bei Färsen die Trächtigkeitsaussichten bei einem Follikeldurchmesser von 12.8 mm am höchsten und bei einem FD < 10.7 und > 15.7 signifikant reduziert [41].

Einer von vier Follikeln mit einem FD  $\geq 25$  mm ovulierte zwar; es kam aber nicht zu einer Trächtigkeit. Die Prävalenz von COFs lag bei 2.3% und damit niedriger als bei Lopez-Gatius (2003), der bei 7.3% der Kühe COFs diagnostiziert hatte. Jedoch wurden in der vorher erwähnten Studie nur Kühe zwischen 45-70 Tage p.p. untersucht, während die in die eigene Arbeit aufgenommenen Kühe sich in einem deutlich späteren Laktationsstadium befanden ( $78.3 \pm 36.6$  Tage). Die Prävalenz von COFs ist am höchsten bis 60 Tage p.p. [37][42]. Zudem beziehen sich die Angaben von Lopez-Gatius zur Prävalenz von COFs nicht nur auf Kühe mit Brunstsymptomen, wie in der vorliegenden Untersuchung, sondern auf alle Kühe, die in dem genannten Zeitraum gynäkologisch untersucht wurden [37]. Wir konnten in der Erkennungsrate zwischen der Sonographie und der Palpation der COFs keine signifikanten Unterschiede feststellen. Dies deckt sich mit den Ergebnissen von Lüttgenau et al. (2015), die auch keine Unterschiede hinsichtlich der Zuverlässigkeit der Erkennung von COFs palpatorisch oder sonographisch feststellen konnten [35].

Ausserdem stellten wir in unserer Studie fest, dass bei der Besamung von Kühen mit einem CLD zwischen 10 mm und 15 mm kein geringerer EBE erzielt wurde als bei solchen Kühen mit einem CL < 10 mm. Ab einem CLD  $\geq 15$  mm waren jedoch deutlich schlechtere OVR und EBE zu beobachten. Dieses Ergebnis steht im Gegensatz zu der Aussage von Lopez-Gatius et al. (1991), die alle Kühe mit einem CLD > 10 mm als besamungsuntauglich einstufen [43]. Der Grenzwert von 10 mm erscheint uns daher für die Beurteilung der Besamungstauglichkeit zu niedrig gewählt zu sein. Zu der gleichen Ansicht kamen auch Lüttgenau et al (2015), die bei Kühen im Östrus häufig einen CLD von mindestens 10 mm beobachteten und daher vermuten, dass der Grenzwert von 10 mm zu niedrig gewählt sein könnte [35].

Es scheint also davon auszugehen zu sein, dass Kühe mit einem CLD > 15 mm als besamungsuntauglich einzustufen sind, denn bei solchen Kühen kam es nur noch in 22.3% der Fälle zu einer Ovulation des Follikels und zu keiner Trächtigkeit. Dieses Phänomen beschreiben auch Stevenson et al. (2008) in ihrer Studie. Die Ovulationsrate war

erniedrigt bei Anwesenheit eines CL und hohen Progesteronwerten [44]. Progesteron blockiert den stimulierenden Effekt des Östradiol auf den Hypothalamus [45] und wahrscheinlich zusätzlich auf den Hypophysenvorderlappen [45][46]. Somit kommt es zu einer verminderten GnRH Sekretion und der LH Peak bleibt folglich aus oder tritt verzögert ein, was zu einer geringeren Ovulationsrate bzw. einer verzögerten Ovulation führt. Herzog et al. (2009) fanden an den Tagen -2 und -1 (Tag 0 = Oestrus) CLDs, die mit denen in unserer Studie gemessenen CLDs  $> 15$  mm vergleichbar sind [47].

Souza et al. (2011) fanden heraus, dass die ED bei der Besamung von Holstein Friesian Kühen, die einem Ovulationssynchronisationsprogramm unterzogen wurden, einen Einfluss auf die OVR und den EBE bei Kühen hat, d.h. in ihrer Studie waren bei Kühen mit einer  $ED \leq 8$  mm die OVR und der EBE deutlich niedriger als bei Kühen mit  $ED > 8$  mm [12]. Wir kamen in unserer Studie zu sehr ähnlichen Ergebnissen, obwohl wir Kühe einer anderen Rasse und in spontaner Brunst untersucht haben. Die Verdickung des Endometriums lässt sich mit einer östrogenbedingten Ödematisierung des Endometriums erklären [12]. Bei nicht-brünstigen Tieren sind die Östrogenspiegel und damit die ED reduziert. Auffällig war bei unserer Studie, dass Kühe mit einem relativ dicken Endometrium ( $ED_{11}$ ) einen geringeren EBE aufwiesen als Kühe mit  $ED_9$  und  $ED_{10}$ . Die könnte darauf hindeuten, dass einige der Tiere zum Zeitpunkt der Besamung von einer subklinischen Endometritis betroffen waren und dies zu einer Ödematisierung des endometrialen Gewebes geführt hat. Lüttgenau et al. haben jedoch keine Unterschiede in der ED zwischen Kühen ohne und mit klinischer Endometritis festgestellt [35]. Der Grund für den erniedrigten EBE bei hoher ED sollte folglich in weiteren Studien abgeklärt werden. Hätte man in der vorliegenden Studie nur solche Kühe als besamungstauglich eingestuft, die Follikel mit einem FD von 12 bis 20 mm und ein CL mit einem  $CLD < 15$  mm zeigten, wären 22.6% der vorgestellten Tiere als besamungsuntauglich eingestuft worden. Der EBE war bei diesen Kühen mit 65.8% höher als bei der Besamung aller Kühe. Bezieht man die Anzahl der nach der Besamung trächtigen Kühe auf alle zur Besamung vorgestellten Tiere so läge der Anteil trächtiger ähnlich hoch wie bei Besamung aller Kühe. Somit könnte man aufgrund der sonographisch erfassten Parameter Follikel- und Corpus luteum-Grösse fast ein Viertel der Kühe von der Besamung ausschliessen ohne damit einen Abfall der Trächtigkeitsrate in der Herde in Kauf nehmen zu müssen. Würde man zusätzlich noch die ED als Kriterium für die Beurteilung der Besamungstauglichkeit heranziehen, dann läge der EBE sogar bei 69.3%. Da die Prävalenz von Tieren mit sol-

chen Befunden aber nur 53.7% betrug, würden mit einer Trächtigkeitsrate von 36.9% bezogen auf alle zur Besamung vorgestellten Kühe deutlich weniger Tiere trächtig als bei der unselektierten Besamung der Kühe. Lüttgenau et al. (2016) kamen zu einem ähnlichen Ergebnis. Sie konnten den EBE durch eine ultasonographische Untersuchung und somit eine bessere Vorselektion der Kühe um 7.8% verbessern [35].

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass der Erstbesamungserfolg bei Kühen durch eine Palpation des präovulatorischen Follikel nicht beeinträchtigt wird und eine Selektion von Kühen mit einem sonographisch ermittelten Follikeldurchmesser von 12 bis 20 mm sowie einem Durchmesser eines etwaig vorhandenen CLDs von weniger als 15 mm den Prozentsatz erfolgloser Besamungen um mehr als 20% reduzieren kann.

## Referenzen

- [1] Foote RH. Review: dairy cattle reproductive physiology research and management--past progress and future prospects. *J Dairy Sci* 1996;79:980–90. doi:10.3168/jds.S0022-0302(96)76449-4.
- [2] Roelofs JB, Graat EAM, Mullaart E, Soede NM, Voskamp-Harkema W, Kemp B. Effects of insemination-ovulation interval on fertilization rates and embryo characteristics in dairy cattle. *Theriogenology* 2006;66:2173–81. doi:10.1016/j.theriogenology.2006.07.005.
- [3] Leiding C. No Title. Direktor Des BVN Neustadt an Der Aisch n.d.
- [4] López-Gatius F, Camón-Urgel J. Confirmation of estrus rates by palpation per rectum of genital organs in normal repeat dairy cows. *Zentralbl Veterinarmed A* 1991;38:553–6.
- [5] Roelofs JB, Bouwman EG, Dieleman SJ, Van Eerdenburg FJCM, Kaal-Lansbergen LMTE, Soede NM, et al. Influence of repeated rectal ultrasound examinations on hormone profiles and behaviour around oestrus and ovulation in dairy cattle. *Theriogenology* 2004;62:1337–52. doi:10.1016/j.theriogenology.2004.02.002.
- [6] López-Gatius F, Camón-Urgel J. Increase of pregnancy rate in dairy cattle after preovulatory follicle palpation and deep cornual insemination. *Theriogenology* 1988;29:1099–103. doi:10.1016/S0093-691X(88)80034-7.
- [7] Sturman H, Oltenacu EA, Foote RH. Importance of inseminating only cows in estrus. *Theriogenology* 2000;53:1657–67. doi:10.1016/S0093-691X(00)00305-8.
- [8] López-Gatius F. Feeling the ovaries prior to insemination. Clinical implications for improving the fertility of the dairy cow. *Theriogenology* 2011;76:177–83. doi:10.1016/j.theriogenology.2011.01.030.
- [9] Bicalho RC, Galvão KN, Guard CL, Santos JEP. Optimizing the accuracy of detecting a functional corpus luteum in dairy cows. *Theriogenology* 2008;70:199–207. doi:10.1016/j.theriogenology.2008.03.015.
- [10] Ribadu AY, Ward WR, Dobson H. Comparative Evaluation of Ovarian Structures in Cattle by Palpation Per Rectum, Ultrasonography and Plasma Progesterone Concentration. *Vet Rec* 1994;135:452–7.
- [11] Kelton DF, Leslie KE, Etherington WG, Bonnett BN, Walton JS. Accuracy of rectal palpation and of a rapid milk progesterone enzyme-immunoassay for determining

the presence of a functional corpus luteum in subestrous dairy cows. *Can Vet J = La Rev Vet Can* 1991;32:286–91.

- [12] Souza AH, Silva EPB, Cunha AP, Gümen A, Ayres H, Brusveen DJ, et al. Ultrasonographic evaluation of endometrial thickness near timed AI as a predictor of fertility in high-producing dairy cows. *Theriogenology* 2011;75:722–33. doi:10.1016/j.theriogenology.2010.10.013.
- [13] Garverick HA. Ovarian Follicular Cysts in Dairy Cows 1 1997:995–1004. doi:10.3168/jds.S0022-0302(97)76025-9.
- [14] Santolaria P, Ya J, Fenech M, Lo F, Lo M. Risk factors for postpartum ovarian cysts and their spontaneous recovery or persistence in lactating dairy cows 2002;58:1623–32.
- [15] Gowan EW, Etches RJ. A solid-phase radioimmunoassay for progesterone and its application to pregnancy diagnosis in the cow. *Theriogenology* 1979;12:327–43. doi:10.1016/0093-691X(79)90039-6.
- [16] Lambertz C, Völker D, Janowitz U, Gauly M. Evaluation of vaginal discharge with the Metrichheck device and the relationship to reproductive performance in postpartum dairy cows. *Anim Sci J* 2014;85:848–52. doi:10.1111/asj.12219.
- [17] Cutullic E, Delaby L, Gallard Y, Disenhaus C. Towards a better understanding of the respective effects of milk yield and body condition dynamics on reproduction in Holstein dairy cows. *Animal* 2012;6:476–87. doi:10.1017/S175173111100173X.
- [18] Lambertz C, Völker D, Janowitz U, Gauly M. Evaluation of vaginal discharge with the Metrichheck device and the relationship to reproductive performance in postpartum dairy cows. *Anim Sci J* 2014;85:848–52. doi:10.1111/asj.12219.
- [19] Dobson H, Smith R, Royal M, Knight C, Sheldon I. The high-producing dairy cow and its reproductive performance. *Reprod Domest Anim* 2007;42 Suppl 2:17–23. doi:10.1111/j.1439-0531.2007.00906.x.
- [20] Sakaguchi M. Practical aspects of the fertility of dairy cattle. *J Reprod Dev* 2011;57:17–33.
- [21] Urdl M, Gruber L, Obritzhauser W, Schauer A. Metabolic parameters and their relationship to energy balance in multiparous Simmental, Brown Swiss and Holstein cows in the periparturient period as influenced by energy supply pre- and post-calving. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2015;99:174–89. doi:10.1111/jpn.12178.

- [22] Bostedt H, Kuhn A, Schädlich R, Schwarz G. [Ovulation control in cattle in connection with artificial insemination and its significance for pregnancy results]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr* 1977;90:113–6.
- [23] Butler WR. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, vol. 60–61, Elsevier; 2000, p. 449–57. doi:10.1016/S0378-4320(00)00076-2.
- [24] Rocha A, Rocha S, Carvalheira J. Reproductive Parameters and Efficiency of Inseminators in Dairy Farms in Portugal. *Reprod Domest Anim* 2001;36:319–24. doi:10.1046/j.1439-0531.2001.00309.x.
- [25] Tenhagen B-A, Surholt R, Wittke M, Vogel C, Drillich M, Heuwieser W. Use of Ovsynch in dairy herds—differences between primiparous and multiparous cows. *Anim Reprod Sci* 2004;81:1–11. doi:10.1016/j.anireprosci.2003.08.009.
- [26] Hillers JK, Senger PL, Darlington RL, Fleming WN. Effects of production, season, age of cow, days dry, and days in milk on conception to first service in large commercial dairy herds. *J Dairy Sci* 1984;67:861–7. doi:10.3168/jds.S0022-0302(84)81378-8.
- [27] Gröhn YT, Rajala-Schultz PJ. Epidemiology of reproductive performance in dairy cows. *Anim. Reprod. Sci.*, vol. 60–61, *Anim Reprod Sci*; 2000, p. 605–14. doi:10.1016/S0378-4320(00)00085-3.
- [28] Fonseca FA, Britt JH, McDaniel BT, Wilk JC, Rakes AH. Reproductive Traits of Holsteins and Jerseys. Effects of Age, Milk Yield, and Clinical Abnormalities on Involution of Cervix and Uterus, Ovulation, Estrous Cycles, Detection of Estrus, Conception Rate, and Days Open. *J Dairy Sci* 1983;66:1128–47. doi:10.3168/jds.S0022-0302(83)81910-9.
- [29] Santamaria S. Untersuchungen zur verzögerten Ovulation beim Rind 2004.
- [30] Wishart DF. Observations on the oestrous cycle of the Friesian heifer. *Vet Rec* 1972;90:595–7.
- [31] Marion GB, Smith VR, Wiley TE, Barrett GR. The Effect of Sterile Copulation on Time of Ovulation in Dairy Heifers<sup>1</sup>. *J Dairy Sci* 1950;33:885–9. doi:10.3168/jds.S0022-0302(50)91985-0.
- [32] Hays RL, Vandemark NL. Effect of stimulation of the reproductive organs of the cow on the release of an oxytocin-like substance. *Endocrinology* 1953;52:634–7. doi:10.1210/endo-52-6-634.

- [33] Vandemark NL, Hays RL. Uterine motility responses to mating. *Am J Physiol* 1952;170:518–21.
- [34] Hunter R, Greve T. Could Artificial Insemination of Cattle be More Fruitful? Penalties Associated with Ageing Eggs. *Reprod Domest Anim* 1997;32:137–41. doi:10.1111/j.1439-0531.1997.tb01271.x.
- [35] Lüttgenau J, Mang H, Borel N, Bruckmaier RM, Bollwein H. Ultrasonographic examination reduces the percentage of unsuccessful inseminations in dairy cows. *Theriogenology* n.d. doi:10.1016/j.theriogenology.2015.10.004.
- [36] Pieterse MC, Taverne MA, Kruip TA, Willemse AH. Detection of corpora lutea and follicles in cows: a comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. *Vet Rec* 1990;126:552–4.
- [37] López-Gatius F. Is fertility declining in dairy cattle? A retrospective study in northeastern Spain. *Theriogenology* 2003;60:89–99.
- [38] Hunter RHF. Fertility in cattle: basic reasons why late insemination must be avoided. *Anim Breed Abstr* 1985;53:83–7.
- [39] Roelofs J, López-Gatius F, Hunter RHF, van Eerdenburg FJCM, Hanzen C. When is a cow in estrus? Clinical and practical aspects. *Theriogenology* 2010;74:327–44. doi:10.1016/j.theriogenology.2010.02.016.
- [40] Vasconcelos JL, Silcox RW, Rosa GJ, Pursley JR, Wiltbank MC. Synchronization rate, size of the ovulatory follicle, and pregnancy rate after synchronization of ovulation beginning on different days of the estrous cycle in lactating dairy cows. *Theriogenology* 1999;52:1067–78. doi:10.1016/S0093-691X(99)00195-8.
- [41] Perry GA, Smith MF, Roberts AJ, MacNeil MD, Geary TW. Relationship between size of the ovulatory follicle and pregnancy success in beef heifers. *J Anim Sci* 2007;85:684–9. doi:10.2527/jas.2006-519.
- [42] Erb RE, Morrison RA. Estrus after Conception in a Herd of Holstein-Friesian Cattle1. *J Dairy Sci* 1958;41:267–74. doi:10.3168/jds.S0022-0302(58)90902-0.
- [43] López-Gatius F, Camón-Urgel J. Confirmation of estrus rates by palpation per rectum of genital organs in normal repeat dairy cows. *Zentralbl Veterinarmed A* 1991;38:553–6.
- [44] Stevenson JS, Tenhouse DE, Krisher RL, Lamb GC, Larson JE, Dahlen CR, et al. Detection of Anovulation by Heatmount Detectors and Transrectal Ultrasonography Before Treatment with Progesterone in a Timed Insemination



Protocol. J Dairy Sci 2008;91:2901–15. doi:10.3168/JDS.2007-0856.

- [45] Baratta M, Grasselli F, Tamanini C. Effects of Gonadal Steroids on Tonic Luteinizing Hormone (LH) Release and Luteinizing Hormone-Releasing Hormone-Induced LH Release from Bovine Pituitary Cells Cultured in Vitro<sup>1</sup>. Biol Reprod 1994;50:1320–7.
- [46] Rispoli LA, Nett TM. Pituitary gonadotropin-releasing hormone (GnRH) receptor: Structure, distribution and regulation of expression. Anim Reprod Sci 2005;88:57–74. doi:10.1016/J.ANIREPROSCI.2005.05.004.
- [47] Kaske M, Beindorff N. Luteal blood flow is a more appropriate indicator for luteal function during the bovine estrous cycle than luteal size 2010;73:691–7. doi:10.1016/j.theriogenology.2009.11.016.

## **Danksagung**

Die Studie wurde dankenswerterweise durch den Besamungsverein Neustadt an der Aisch und die Karl Eibl Stiftung finanziell unterstützt. Des Weiteren gilt ein grosser Dank den Besamungstechnikern, vor allem Franz Meier, der durch sein tatkräftiges Mitwirken die Studie sehr unterstützt und möglich gemacht hat.

Auch allen Landwirten gebührt ein Dankeschön für die Bereitstellung ihrer Tiere und die gute Zusammenarbeit.

Ein besonderer Dank gilt Timo, der mich zu jeder Zeit immer unterstützt und bekräftigt hat weiter zu arbeiten und mir mit all seinem technischem Verständnis immer und zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat, ohne dich hätte ich das nie geschafft.

Auch bei meinen Eltern und meiner ganzen Familie möchte ich mich für die großartige Unterstützung bedanken und bei meinem Betreuer Prof. Dr. med. vet. Heinrich Bollwein für das praxisnahe Thema und die gute Betreuung trotz des langen Zeitraums.

## **Curriculum Vitae**

Vorname Name	Desireé Franziska Lieven
Geburtsdatum	19.08.1988
Geburtsort	Goch
Nationalität	Deutsch

### **Schul Ausbildung**

08/1995 – 07/1999	Martinsgrundschule, Vynen, Deutschland
08/1999- 06/2008	Städtisches Stiftsgymnasium, Xanten, Deutschland
20.06.2008	Abitur

### **Studium**

09/2008-04/2014	Veterinärmedizinisches Studium, Tiermedizinische Hochschule Hannover, Deutschland
18.03.2014	Abschlussprüfung med. vet. Tiermedizinische Hochschule Hannover, Deutschland

### **Anfertigung der Dissertation**

09/14 – 03/20	unter Leitung von Prof. Dr. med. vet. Heinrich Bollwein am Departement für Nutztiere, Klinik für Reproduktionsmedizin der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich Direktor: Prof. Dr. med. vet. Heinrich Bollwein
---------------	--

### **Beruflicher Werdegang**

11/2014- 05/2019	Assistenttierärztin, Gemischtpraxis Dr. med. vet. Stephan Egen, Kevelaer, Deutschland
06/19- heute	Assistenttierärztin, Rinderteam Niederrhein Gmbh, Sonsbeck, Deutschland